

THESIS

MUNICH

1965

HISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNG
DER ZAHNENTWICKLUNG
BEI DER WEISSEN MAUS

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA

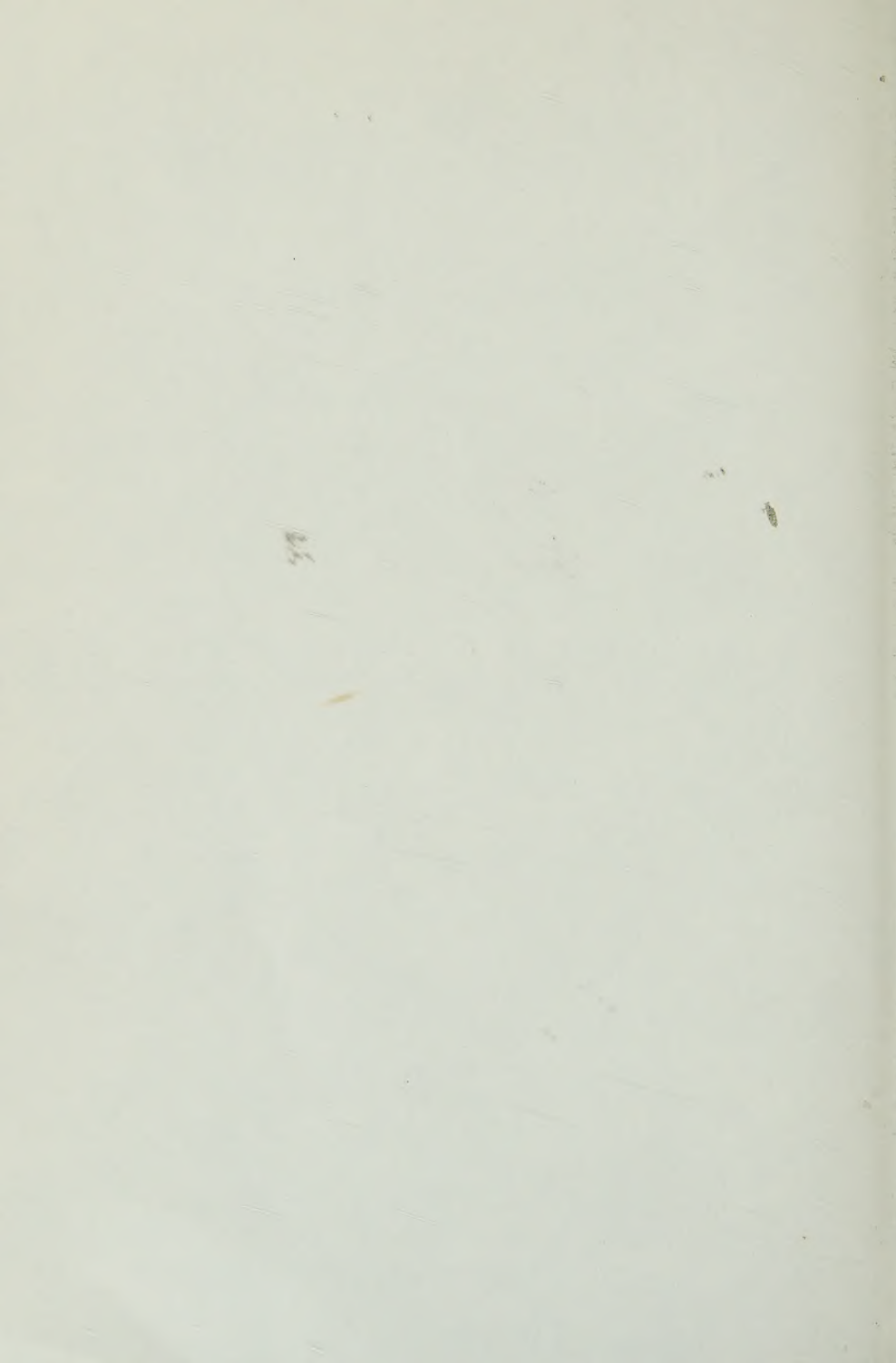
Barbara Ingrid Detzel





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154016_0039



Aus dem Institut für Histologie und experimentelle Biologie
der Universität München

Direktor: Professor Dr. R. Bachmann

HISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNG DER ZAHNENTWICKLUNG
BEI DER WEISSEN MAUS

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
BARBARA INGRID DETZEL
aus Wasseralffingen

München 1965

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Priv.-Doz. Dr. W. Schmidt

Co-Referent: Prof. Dr. R. Bachmann

Dekan: Prof. Dr. Dr. R. Zenker

Tag der mündlichen Prüfung: 5.10.1965

MEINEN ELTERN

GEWIDMET

REINER KUNST

VERLAG

1/2

Verlag des Reichsausschusses der Kunstgewerblichen Fachschulen

der Kunstgewerblichen Schulen

Verlag des Reichsausschusses der Kunstgewerblichen Fachschulen

der Kunstgewerblichen Schulen

Verlag des Reichsausschusses der Kunstgewerblichen Fachschulen

Verlag des Reichsausschusses der Kunstgewerblichen Fachschulen

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
A. Einleitung	4
B. Literaturübersicht über die bisherigen histochemischen Untersuchungen an den Entwicklungsstadien der Zähne	6
C. Material und Methodik	11
D. Eigene Befunde:	
I. Kohlehydrate	
II. Lipide	
III. Proteine	
IV. Nukleinsäuren	
V. Fermente	
VI. Kalzium	
E. Diskussion	21
F. Zusammenfassung	29
G. Literaturverzeichnis	30
Danksagung	35
Lebenslauf	35

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. Einleitung

2. Literaturverzeichnis über die Geschichte
der Forschung über die Entstehung
des Lebens

3. Entstehung und Entwicklung

4. Die ersten Lebewesen: 1. Zelltheorie
2. Mikroskopie
3. Zellteilung
4. Zellstruktur
5. Zellfunktion
6. Zellentwicklung

5. Zelltheorie

6. Zelltheorie

7. Zelltheorie

8. Zelltheorie

9. Zelltheorie

HISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNG DER ZAHNENTWICKLUNG BEI DER WEISSEN MAUS

A. EINLEITUNG

Die Entwicklung der Zähne war in den letzten Jahren bereits mehrfach Gegenstand histochemischer Untersuchungen (BEVELANDER et al. 1946, 1949, 1955, BURSTONE 1959, ENGEL et al. 1942, JOHNSON et al. 1954, SOGNAES 1955, SYMONS 1955, 1956, WISLOCKI et al. 1948, 1950). Mit Hilfe neuerer cyto- und histochemischer Methoden wurde es möglich, die während der Zahnentwicklung auftretenden Stoffe und Fermente nachzuweisen, ihre Veränderungen zu studieren und den Transport der Stoffe bei der Bildung der Hartsubstanz zu verfolgen. Man ist damit in der Lage, Rückschlüsse auf Zusammenhänge zwischen dem Stoffwechsel und den spezifischen Leistungen der Zahngewebe zu ziehen.

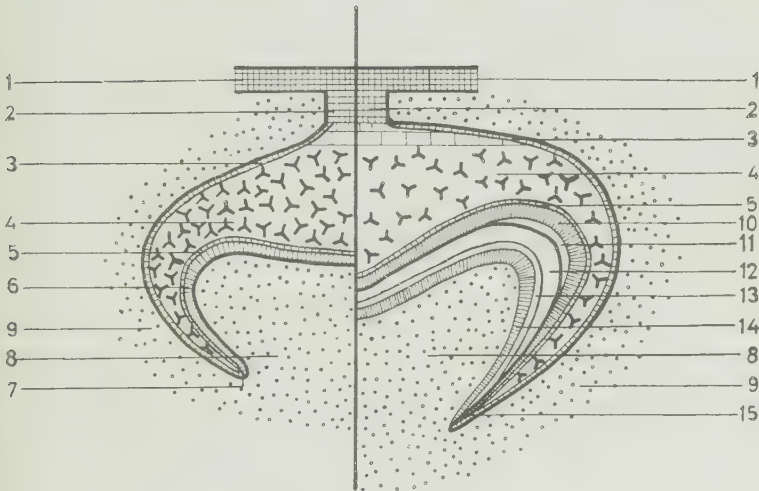
Da sich die bisherigen Untersuchungen der verschiedenen Autoren nur auf einige Stadien der Zahnentwicklung beschränkten, zum Teil am Menschen, zum Teil an verschiedenen Versuchstieren vorgenommen wurden und auch nicht ohne Widersprüche sind, versuchte ich, an verschiedenen Entwicklungsstadien der Maus (von der frühen Zahnanlage 16 Tage alter Feten bis zu Beginn der Verkalkung bei 4-8 Tage alten Mäusen) die früheren Befunde nachzuprüfen, zu ergänzen und widersprüchliche Ergebnisse zu klären. Es wurde hierfür eine größere Zahl von Reaktionen angestellt, da zahlreiche histochemische Tests von geringer Spezifität sind, und eine Aussage oft nur aus mehreren Reaktionen und per exclusionem gemacht werden kann.



Zum besseren Verständnis der in dieser Arbeit gebrauchten Nomenklatur soll folgende Abbildung vorausgeschickt werden.

16. Tag der Gestation

3. Tag post partum



- 1 - Mundhöhlenepithel
- 2 - Zahnleiste
- 3 - äußeres Schmelzepithel
- 4 - Sternretikulum
- 5 - Stratum intermedium
- 6 - inneres Schmelzepithel, bzw. Praeameloblasten
- 7 - Übergang von innerem in äußeres Schmelzepithel
- 8 - Zahnpapille, bzw. spätere Pulpa
- 9 - Zahnsäckchen
- 10 - Ameloblasten
- 11 - Schmelz
- 12 - Dentin
- 13 - Prädentin
- 14 - Odontoblasten
- 15 - Membrana präformativa

B. LITERATURÜBERSICHT ÜBER DIE BISHERIGEN
HISTOCHEMISCHEN UNTERSUCHUNGEN AN DEN ENTWICKLUNGS-
STADIEN DER ZÄHNE

In der folgenden Literaturübersicht werden wie bei der Darstellung der eigenen Befunde die Untersuchungen nach Stoffklassen und Fermentgruppen aufgeschlüsselt und in dieser Reihenfolge abgehandelt. Wie die Durchsicht der Literatur zeigte, bestehen keine grundsätzlichen Unterschiede in der Verteilung der Stoffe und Fermente in der Zahnanlage verschiedener Tierspezies. Es scheint deshalb gerechtfertigt, ganz allgemein und ohne Nennung der Artnamen die Befunde an den verschiedenen Komponenten der Zahnanlage aufzuführen.

I POLYSACCHARIDE UND MUCOPROTEIDE

1) GLYKOGEN: Die Beobachtungen über Vorkommen und Verteilung von Glykogen in der Zahnanlage stimmen mit unwesentlichen Abweichungen bei den verschiedenen Untersuchern überein. Besonders reichlich findet es sich während der frühen Stadien der Zahnentwicklung in Mundhöhlenepithel und Zahnleiste (HOROWITZ 1942, BEVELANDER und JOHNSON 1949). Später tritt Glykogen konzentriert im Bereich des Zahnsäckchens (HOROWITZ 1942, BEVELANDER und JOHNSON 1949) sowie am peripheren Rand der Ameloblasten der Incisivi (HOROWITZ 1942, WISLOCKI und SOGNAES 1950) auf. - In älteren Entwicklungsstadien kommt Glykogen auch noch im Stratum intermedium (BEVELANDER und JOHNSON 1942, WISLOCKI und SOGNAES 1950) vor, während es zur Zeit der Kalkeinlagerung in allen Geweben fehlt, die am Verkalkungsprozess beteiligt sind (BEVELANDER und JOHNSON 1949). WISLOCKI und SOGNAES (1950) finden als einzige Glykogen auch in den Odontoblasten und in der Pulpa, jedoch menschlicher Feten.

2) GLYKOPROTEINE: WISLOCKI und SOGNAES (1950) gelingt es, Glykoproteine in Odontoblastenfortsätzen, Kollagenfasern der Pulpa und in geringerer Menge in der Grundsubstanz zwischen den Zellen des Sternretikulums nachzuweisen.

3) MUCOPOLYSACCHARIDE: Nach den Untersuchungen SCHLORFs (1961) färbt sich bei der PJS-Reaktion nach McMANUS die Grenzlinie zwischen den Praeameloblasten und den apolaren Odontoblasten an der labialen Basis des Rattenincisivus intensiv rot. Im Dentinmantel wird eine stark rote Linie im Bereich der Grenzschicht zwischen Prädentin und Dentin sichtbar, eine weniger intensive Färbung läßt das Prädentin erkennen. Das Cytoplasma der Odontoblasten ist stark rot gefärbt, nur sehr schwach dagegen die Zellen der Basalpulpa mit der dazwischen liegenden Grundsubstanz und den Fasern. Der Zelleib der Ameloblasten verhält sich bis auf den basalen Bereich schwach positiv. Die zwischen den Ameloblasten gelegene Interzellulärsubstanz ist intensiv, die interprismatische Substanz des Schmelzes weniger intensiv gefärbt. - Mit dieser detaillierten Schilderung stimmen die von BEVELANDER und JOHNSON (1955) aufgeführten Ergebnisse in den wesentlichen Punkten überein.

4) METACHROMATISCHE SAURE MUCOPOLYSACCHARIDE werden im äußeren Schmelzepithel (SCHLORF 1961), in der Interzellulärsubstanz des Sternretikulums (WISLOCKI und SOGNAES 1955, BEVELANDER und JOHNSON 1955, SCHLORF 1961) und im Cytoplasma seiner Zellen (SCHLORF 1961) nachgewiesen. Das Stratum intermedium ist nur sehr schwach angefärbt (SCHLORF 1961). Positiv verhält sich auch die Grundsubstanz zwischen den Zellen der Pulpa (BEVELANDER und JOHNSON 1955, SCHLORF 1961) und deren Fasernetz (SCHLORF 1961). Nach Einsetzen der Hartsubstanzbildung werden Schmelz- und Dentinmatrix metachromatisch, schwächer dagegen die Fortsätze der Odontoblasten und Ameloblasten (BEVELANDER und JOHNSON 1955).

II LIPIDE

Nach SCHLORF (1961) finden sich sudanophile Substanzen in der Grenzlinie zwischen innerem Schmelzepithel und Proodontoblasten und im Cytoplasma der Pulpazellen, die an die Proodontoblasten angrenzen. WISLOCKI und SOGNAES (1950) gelingt der Lipidnachweis in den Fibroblasten der Pulpa und in den Prismenscheiden des Schmelzes. Alle Untersucher (WISLOCKI und SOGNAES 1950, IRVING 1958, STEWART 1961, SCHLORF 1961) beobachten übereinstimmend eine feintropfige bzw. feingranuläre Verteilung der Lipide im Cytoplasma der Odontoblasten und Ameloblasten.

III PROTEINE

Alle bisherigen Untersuchungen sprechen für die Keratinnatur der Schmelzmatrix (CHASE 1929, ROSEBURY 1930, WISLOCKI und SOGNAES 1950, PAUTARD 1963). Eine positive Sulfhydryl-(SH-) Reaktion, die für Keratin charakteristisch ist, zeigen außer der Schmelzmatrix ein schmaler Streifen an der Grenze von Dentin zu Prädentin (WISLOCKI und SOGNAES 1950, NAUJOKS 1956, SCHLORF 1961) und die Ameloblasten (SOGNAES 1955, NAUJOKS 1956, SCHLORF 1961). SOGNAES (1955) findet in geringem Ausmaß auch im Prädentin, in Odontoblasten und Pulpa eine positive Reaktion auf SH-Gruppen; diese Reaktion verschwindet jedoch bei der Verkalkung des Dentins, während sie im Bereich des Schmelzes durch Stoffe mit positiver Disulfid-Reaktion ersetzt wird.

IV NUKLEINSÄUREN

1) DNS: Die DNS ist in den Zahnanlagen allein an die Kernsubstanz gebunden. Die Zu- oder Abnahme des DNS-Gehaltes geht während der Zahnentwicklung mit den morphologisch faßbaren Veränderungen der Kernvolumina einher (JOHNSON und BEVELANDER 1954, HERMANN 1956).

2) RNS: Übereinstimmend wird RNS im Cytoplasma der Ameloblasten, Odontoblasten und der Zellen der Zahnpapille gefunden (JOHNSON und BEVELANDER 1954, SYMONS 1956, HERMANN 1956). HERMANN (1956) gelingt zudem der RNS-Nachweis in der Zahnleiste und im inneren Schmelzepithel, dessen RNS-Gehalt jedoch bei der Differenzierung zu Ameloblasten im Laufe der Entwicklung abnimmt. JOHNSON und BEVELANDER (1954) finden ein geringeres Vorkommen von RNS in der Schmelzpulpa und im Zahnsäckchen. Der RNS-Gehalt der Pulpa verschwindet nach SYMONS (1956) bei der Odontoblastenbildung. Während der Bildung der Schmelzmatrix findet sich im distalen¹⁾ Zellende der Ameloblasten vermehrt RNS, während der Schmelzreifung mehr im basalen²⁾, wobei gleichzeitig die distale RNS-haltige Zone zu einem schmalen Streifen reduziert wird.

V FERMENTE

1) ALKALISCHE PHOSPHATASE: Bei ganz jungen Entwicklungsstadien wird alkalische Phosphatase in der Zahnleiste nachgewiesen (HOROWITZ 1942, BRUCKNER 1949). Die höchste Aktivität findet sich bei älteren Stadien im Stratum intermedium und in der subodontoblastischen Papille, eine schwächere im Sternretikulum und in der übrigen Zahnpapille (HOROWITZ 1942, MORSE und GREEP 1947, BRUCKNER 1949, WISLOCKI und SOGNAES 1950, SYMONS 1955, 1956, SASSO und CASTRO 1957, NUKI und BONTING 1961, SCHLORF 1961). Erst zu Beginn der Dentin- und Schmelzbildung tritt die alkalische Phosphatase in Ameloblasten (MORSE und GREEP 1947, BEVELANDER und JOHNSON 1949, BRUCKNER 1949, WISLOCKI und SOGNAES 1950, SYMONS 1955, 1956, NAUJOKS 1956) und Odontoblasten auf (MORSE und GREEP 1947, BEVELANDER und JOHNSON 1949, BRUCKNER 1949, HARRIS 1950, WISLOCKI und SOGNAES 1950, SYMONS 1955, 1956).

|||||||

- 1) Das distale Zellende der Ameloblasten liegt in Richtung der Odontoblasten.
- 2) Das basale Zellende der Ameloblasten liegt in Richtung des Stratum intermediums.

2) SAURE PHOSPHATASE: WEIZENBERG (1942) findet sie in ganz frühen Entwicklungsstadien der Zahnanlage nur in der Zahnleiste, während CEDERBERG (1952) sie in allen Geweben der frühen Entwicklungsstadien mit Ausnahme des Sternretikulums nachweist. Das Vorkommen saurer Phosphatase in Odontoblasten und Ameloblasten stellt er in Übereinstimmung mit MORI (1962) fest. SCHLORF (1961) bezeichnet auch die äußere Prädentinschicht und das verkalkende Dentin als positiv. Er steht damit im Widerspruch zu BURSTONE (1959), der im gesamten Prädentin, nicht aber im verkalkenden Dentin eine positive saure Phosphatase-Reaktion erkennen kann.

VI KALZIUM

Schon vor der Schmelz- und Dentinbildung, in verstärktem Maße aber mit deren Beginn, läßt sich nach BARGMANN (1959) im Cytoplasma von Ameloblasten und Odontoblasten Kalzium nachweisen. Anfangs ist Schmelz- und Dentinmatrix kalkfrei, im Zuge der Schmelz- und Dentinbildung werden dann Kalksalze in Form des Hydroxylapatits eingelagert. MARSLAND (1951) stimmt mit diesen Befunden in Bezug auf Ameloblasten und Schmelzmatrix überein, da er nur die Schmelzbildung, bzw. -reifung untersucht hat.

C. MATERIAL UND METHODIK

Untersucht wurden die Zahnanlagen weißer Laboratoriumsmäuse vom 16. Tag der Gestation bis maximal 8 Tage nach der Geburt. In diesen Entwicklungsstadien ist die Entkalkung der Objekte, die eine Veränderung, Lösung, bzw. Depolymerisation der fraglichen Stoffe herbeiführen kann, noch nicht nötig, weshalb ältere Stadien, bei denen die Hartsubstanzbildung vorangeschritten ist, nicht mehr herangezogen wurden. Die histochemischen und cytochemischen Nachweismethoden wurden dem Lehrbuch von PEARSE und der Sammlung von LIPP entnommen. Im einzelnen wurden folgende Methoden angewandt:

I Polysaccharide und Mucoproteide:

1. Zum Nachweis von Glykogen: Perjodsäure-Oxydationstechnik (HOTCHKISS) nach Fixierung in Carnoy und Kontrolle durch Speicheldigerierung.
2. Zum Nachweis von polysaccharidhaltigen Stoffen außer Glykogen: Perjodsäure-Oxydationstechnik (HOTCHKISS) nach Fixierung in Helly; Gegenfärbung des Cytoplasmas mit Lichtgrün. Das störende Glykogen wurde durch die Speicheldigerierung herausgelöst.
3. Zum Nachweis von sauren Mucopolysacchariden: Astrablau-Färbung (PIOCH) nach Fixierung in Formol; Gegenfärbung mit Kernechtrot.
4. Zum Nachweis der Metachromasie der sauren Polysaccharide: Toluidinblau-Reaktion (ROMEIS) nach Fixierung in Helly; außerdem die Pseudoisocyanin-Reaktion (SCHIEBLER und SCHIESSLER) nach Fixierung in Formol.

II Lipide:

1. Zum Nachweis von Neutralfetten und Esterphosphatiden:
Methode CIACCIO I nach Fixierung in Formol-Dichromat, Einbettung in Carbowachs.
2. Zum Nachweis von Esterphosphatiden:
 - a) Luxol-fast-blue (KLÜVER und BARRERA) nach Fixierung in Formol; Gegenfärbung mit Kernechtrot oder Cresylechtviolett.
 - b) Der Test mit saurem Hämatein nach BAKER.

III Proteine:

1. Zum Nachweis von α -Aminosäuren:
 - a) Alloxan-Schiff-Reaktion nach Fixierung in Formol.
 - b) Acrolein-Schiff-Reaktion (van DUIJN) nach Fixierung in Carnoy.
2. Zum Nachweis von Tyrosin die Diazotierung und Kupplungsreaktion mit Schwefelsäure (GLENNER, LILLIE) nach Fixierung in Formol.
3. Zum Nachweis von Histidin die Methode nach BACHMANN und SEITZ nach Fixierung in Formol.
4. Zum Nachweis von Sulfhydrylgruppen die Ferriferrozyanid-Reaktion nach ADAMS (1956) mit Thioglykolatlösung nach Fixierung in Formol; Kontrolle mit gesättigter wässriger Sublimatlösung.

IV Nukleinsäuren:

1. Zum Nachweis von DNS die Nuklealreaktion (FEULGEN) nach Fixierung in Helly; Gegenfärbung mit Lichtgrün.
2. Zum Nachweis von RNS und DNS die Gallocyanin-Chromalaun-Färbung nach Fixierung in Carnoy; Kontrolle durch unspezifische Hydrolyse mit 15% Salpetersäure bei 20°C über 20 Min.. Hierdurch wird die RNS gelöst und DNS bleibt zurück. Es kann also hiermit auf RNS nur per exclusionem geschlossen werden.

V Fermente:

Zum Nachweis der alkalischen und sauren Phosphatase die Reaktionen nach GOMORI an unfixierten Kryostatschnitten.

VI Kalzium:

Nachweis von Kalzium mit Eisen-Ionen (Turnbulls Blau) nach McGEE-RUSSEL nach Fixierung in Formol; Gegenfärbung mit Eosin-Azophloxin.

Die Gegenfärbungen wurden nur an einigen Vergleichspräparaten ausgeführt, da hierdurch das Ergebnis der histochemischen Reaktion oft überdeckt wird und eine sichere Beurteilung des Präparates nicht mehr möglich ist.

D. EIGENE BEFUNDE

I KOHLEHYDRATE

1) GLYKOGEN: Im Stadium der Zahnknospe findet sich Glykogen in groß- und kleintropfiger Form im Mundhöhlenepithel und in der aus dem Epithel eingesenkten Zahnleiste. Die Zellen der Zahnknospe selbst bleiben frei. Im Stadium der Zahnglocke ist Glykogen in der Zahnleiste, im Stratum intermedium und am unteren Rand des Zahnkeimes nachweisbar, an der Stelle, an der äußeres und inneres Schmelzepithel ineinander übergehen. Die Zellen des Zahnsäckchens und der umgebenden Blasteme enthalten in unterschiedlicher Menge kleine, bzw. grobgranuläre Einlagerungen von Glykogen. Nach Differenzierung von Odontoblasten und Ameloblasten ist das Vorkommen von Glykogen sehr spärlich und nur auf vereinzelte Tröpfchen in Zellen der Schmelzpulpa und Zahnpapille beschränkt. In Odontoblasten und Ameloblasten selbst ist in keinem Stadium der Entwicklung Glykogen nachweisbar.

2) PJS-POSITIVE SUBSTANZEN AUSSER GLYKOGEN (MUCOPOLYSACCHARIDE):

Wird Glykogen fermentativ aus den Schnitten herausgelöst, dann bleiben andere Glykolgruppen-enthaltende und damit PJS-positive Stoffe in beträchtlicher Konzentration zurück. Azetalphosphatide können durch die Vorbehandlung des Materials, die notwendigerweise zur Extraktion dieser Stoffe führt, ausgeschlossen werden. Mit der PJS-Reaktion werden nach unserer heutigen Kenntnis neutrale wie saure Mucopolysaccharide erfaßt. Sie zeigen folgendes Bild der Verteilung: Im Stadium der Zahnknospe und der Zahnglocke sind die Mucopolysaccharide gleichmäßig über die Zahnanlage verteilt. Man findet sie verstärkt im Bereich der Basalmembran, der Membrana präformativa, im Prädentin, an der Oberfläche der Zellen des Sternretikulums und in den Pulpa-zellen. Im Dentin sind sie besonders konzentriert, in

Ameloblasten und Odontoblasten spärlich. Die Reaktion ist an geformte Bestandteile gebunden, die Interzellularflüssigkeit zeigt keinen nennenswerten Ausfall.

3) SAURE MUCOPOLYSACCHARIDE: Mit Hilfe der Färbung durch Astrablau gelingt es, saure Mucopolysaccharide elektiv darzustellen und von den neutralen Mucopolysacchariden abzugrenzen. Außerdem können saure Mucopolysaccharide durch Färbung mit Toluidinblau oder Pseudoisocyanin erfaßt werden, da sie eine ausgeprägte Metachromasie dieser Farbstoffe bedingen.

Im Stadium der Zahnknospe färben sich mit Astrablau im Sternretikulum und in der Pulpa fein verzweigte strangförmige Ausläufer der Zellen. Lichtmikroskopisch ist nicht sicher zu klären, in welcher Beziehung diese Stränge zum Cytoplasmaleib stehen. Polarisationsmikroskopische Untersuchungen zeigten, daß sie sich anisotrop mit positivem Vorzeichen verhalten, und somit als fibrilläre Strukturen charakterisiert sind. Intensiv gefärbt ist außerdem eine schmale Schicht zwischen Ameloblasten und Odontoblasten. Sie entwickelt sich bei der neugeborenen Maus zur Membrana präformativa, deren dunkelblaue Färbung auf einen hohen Gehalt an sauren Mucopolysacchariden schließen läßt. Die mit den Zellen des Sternretikulums und den Pulpazellen in Kontakt stehenden Fasern haben jetzt an Dicke zugenommen und sind intensiv blau gefärbt. In der Pulpa ist die Färbbarkeit der Interzellularsubstanz hinzugekommen, im Prädentin eine besonders starke Farbstoffbindung an die innere Oberfläche der Dentinkanälchen. Am 4. Tag post partum ist bereits stellenweise das Sternretikulum zu einer intensiv blauen Schicht zusammengesintert.

Das Ergebnis, das mit der Toluidinblau- und Pseudoisocyaninfärbung erzielt wurde, stimmt mit dem der Astrablaufärbung überein.

II LIPIDE

Mit der auf Seite 12 angegebenen Methode der Färbung mit Sudanschwarz B werden die Gesamtlipide, also Neutralfette und Esterphosphatide erfaßt. Sie zeigen folgendes Bild der Verteilung: Im Knospenstadium verhält sich das Cytoplasma aller Zellen der Zahnanlage gleichmäßig schwach sudanophil und unterscheidet sich damit nicht vom Cytoplasma anderer Zellen des Embryos. Etwas stärker tingiert sich die Grenzlinie zwischen epithelialem und mesenchymalem Gewebe. Bei der neugeborenen Maus ist das Cytoplasma von Ameloblasten und Odontoblasten unvermindert diffus blaugrau, jedoch werden jetzt zwischen den Vakuolen im oberen Zellabschnitt vereinzelt kleinste sudanophile Tröpfchen erkennbar. Außerdem ist das apikale (distale) Cytoplasma der Odontoblasten und ein schmaler Streifen des basalen Cytoplasmas der Ameloblasten dunkler als der übrige Zellleib gefärbt. Innerhalb des Prädentins heben sich in gleichem Farbton die Fortsätze der Odontoblasten ab. Alle übrigen Bestandteile der Zahnanlage, Pulpazellen, das Stratum intermedium und das Sternretikulum, sind wie im Stadium der Zahnknospe nur schwach blaugrau. Die Sudanophilie des Dentins ist unspezifisch, wie Extraktionsversuche mit Lipoidlösungsmitteln zeigen.

Zu einer histochemischen Differenzierung der sudanophilen Stoffe wurde die Färbung mit Luxol-fast-blue herangezogen, womit Esterphosphatide nachgewiesen werden sollen. Man erhält damit ein der Sudanschwarzfärbung vergleichbares Bild, jedoch mit einer besonders intensiven Färbung des Cytoplasmas der Ameloblasten.

Als sicherer Nachweis für Esterphosphatide gilt heute allgemein der Test mit saurem Hämatein nach BAKER. Mit dessen Hilfe können die in den Zellen des Stratum intermediums, in den Odontoblasten und Ameloblasten eingelagerten paraplasmatischen Lipide als Phospholipide identifiziert werden.

III PROTEINE

Nach der Acrolein-Schiff-Reaktion zum Nachweis von α -Aminosäuren färben sich alle cytoplasmatischen und faserigen Elemente wie auch die Kerne der Zahnanlage; nur die Interzellulärsubstanz verhält sich negativ. Einen besonders intensiven Ausfall zeigen die distale und basale Zellgrenze der Ameloblasten und die Grenzzone zwischen Dentin und Prädentin, sowie das Dentin. Das Cytoplasma der Zellen des äußeren Schmelzepithels, des Sternretikulums, der Odontoblasten und Ameloblasten ist schwächer gefärbt, merklich stärker die bereits mit der Gallocyanin-Chromalaun-Färbung dargestellten RNS-haltigen Elemente der Odontoblasten und Ameloblasten. Kein solch ausgeprägtes Bild der Verteilung von α -Aminosäuren bringt die Alloxan-Schiff-Reaktion.

Der Nachweis von SH-Gruppen mittels der Ferrizyanidreaktion hatte ein negatives Ergebnis. Die allgemein als unspezifisch bezeichnete Grünfärbung bestimmter Anteile der Zahnanlage fand sich auch in Kontrollschnitten, in denen die SH-Gruppen durch Sublimat blockiert waren. Ebenfalls ein negativer Ausfall war bei den Nachweisen auf Tyrosin und Histidin zu verzeichnen. Beide Reaktionen ergaben keinen Anhalt für Orte höherer Konzentration dieser Aminosäuren innerhalb der Zahnanlage.

IV NUKLEINSÄUREN

1) DESOXYRIBONUKLEINSÄURE: Sie findet sich in der Zahnanlage ausschließlich in den Zellkernen. Der Nachweis von granulären, im Cytoplasma gelegenen Feulgen-positiven Einschlüssen, wie sie von mehreren Untersuchern in embryonalen Zellen anderer Gewebe beobachtet wurden, gelang in keinem der untersuchten Entwicklungsstadien.

2) RIBONUKLEINSÄURE: Im Stadium der Zahnknospe ist mit der Galloeyanin-Chromalaun-Färbung im Cytoplasma aller zelligen Bauelemente ein mäßiger Gehalt an RNS nachweisbar. Nach Differenzierung der Odontoblasten und Ameloblasten nimmt der Gehalt an cytoplasmatischer RNS in diesen Zellen und in den Zellen des Stratum intermediums merklich zu. In den Zellen des Sternretikulums ist indes keine Vermehrung zu beobachten. Die RNS-haltigen Strukturen sind teils diffus über das Cytoplasma verteilt, teils haben sie die Gestalt von Körnchen oder Stäbchen. Zwischen diesen Strukturen bleiben unterschiedlich große vakuoläre Räume ausgespart. Zu Beginn der Hartschubstanzbildung wachsen die Ameloblasten und Odontoblasten außerordentlich stark in die Länge. In diesem Stadium sind die RNS-haltigen Strukturen bis in die Fortsätze der Ameloblasten zu verfolgen, während in den feinen Fortsätzen der Odontoblasten keine Basophilie mit Sicherheit nachweisbar ist. Die unter der Zelloberfläche gelegene Cytoplasmachicht ist oft in mehreren nebeneinander gelegenen Zellen deutlich stärker basophil. Im Bereich der Zellbasis nimmt die Basophilie merklich ab. Als Nebenfund sei vermerkt, daß das Dentin bei der Galloeyanin-Chromalaun-Färbung schwach blaurot metachromatisch gefärbt ist.

V FERMENTE

1) SAURE PHOSPHATASE: Saure Phosphatase enthaltende Zellorte werden in den Odontoblasten nach Bildung der Hartsubstanz vor allem im apikalen Zellbereich nachweisbar. Außerdem geben zahlreiche Granula im gesamten oberhalb des Zellkernes gelegenen Abschnitt eine positive Reaktion. Auch das Cytoplasma der Ameloblasten enthält im entsprechenden Zellabschnitt massenhaft positive Granula. Ein

nicht minder starker Ausfall ist in den Zellkernen und im Dentin, sowie in der Membrana präformativa erkennbar. In Kontrollschnitten, in denen die Phosphatase durch Kochen zerstört wurde, fällt die Reaktion negativ aus. Das Dentin behält seine Braunfärbung, die damit als unspezifisch charakterisiert ist.

2) ALKALISCHE PHOSPHATASE: Bei der Betrachtung der Präparate mit schwacher Vergrößerung zeigt sich im Bereich der Schädelknochen und der Mandibula sowie der gesamten Zahnanlage eine besonders hohe Phosphataseaktivität. Durch sie werden diese Gebilde elektiv dargestellt. Besonders intensiv ist der Ausfall in den Zellen des Stratum intermediums, in den Zellfortsätzen des Sternretikulums, in den Odontoblasten und in den Zellen der subodontoblastischen Papille. Alle übrigen Anteile der Pulpa zeigen eine geringere Aktivität. Auffallend gering ist sie in den Ameloblasten. Hier findet sich nur im basalen Zellbereich ein schwach positiver Ausfall. Hierbei muß in Betracht gezogen werden, daß die Ameloblasten in den untersuchten Stadien noch nicht mit der Schmelzbildung begonnen haben. Die Braunfärbung des Dentins tritt auch nach der Kochprobe auf; sie ist infolgedessen gleichfalls unspezifisch. Die Verteilung der alkalischen Phosphatase ist innerhalb des Cytoplasmas vorwiegend diffus; nur vereinzelt sind Granula eingestreut, die sich positiv verhalten.

VI KALZIUM

Der Kalzium-Nachweis nach GEE-RUSSEL läßt bereits im Stadium der Zahnknospe in den Zellen des äußeren Schmelzepithels, im Stratum intermedium und in der Zahnpapille vereinzelt blau gefärbte Zellorte erkennen. Eine merkliche Zunahme dieser Reaktion, die auf eine vermehrte Einlagerung von Kalzium schließen läßt, wird in den Odontoblasten

und Ameloblasten beim Einsetzen der Hartsubstanzbildung erkennbar. Besonders intensiv ist der Ausfall im Bereich der in das Dentin hineinreichenden Tomes'schen Fasern. Allerdings läßt sich lichtmikroskopisch nicht sicher entscheiden, ob die Farbreaktion an der Oberfläche dieser Fortsätze auftritt oder bereits an der Innenseite der Dentintubuli. Das Prädentin bleibt frei von der Farbreaktion. Bei der Durchsicht der Präparate kann man sich nicht des Eindruckes entziehen, daß die Farbniederschläge im Bereich der Odontoblasten und Ameloblasten zum Großteil nicht intrazellulär, sondern an der Oberfläche der seitlichen Zellwände liegen. Im Cytoplasma selbst ist Kalzium nicht mit Sicherheit nachweisbar.

E. DISKUSSION

A. Die in den verschiedenen Entwicklungsstadien durch die histochemische Untersuchung nachgewiesenen Stoffe lassen folgende topographische Verteilung in der Zahnanlage erkennen:

In der Interzellularflüssigkeit und im Bindegewebsfasernetz der sternförmig verzweigten Zellen der mesenchymalen Pulpa sind im basalen Bereich neben neutralen Mucopolysacchariden beträchtliche Mengen saurer Mucopolysaccharide nachweisbar, die während der Reifungsvorgänge an Menge noch zunehmen. Die Zellen der Pulpa enthalten in mäßiger Konzentration RNS, sudanophile Stoffe, saure und alkalische Phosphatase. Weiter kronenwärts, also im Bereich fortgeschrittener Differenzierung, nimmt der Gehalt an alkalischer Phosphatase zu, während der Gehalt an sauren Mucopolysacchariden zugunsten neutraler schwindet. Glykogen ist nur in sehr geringen Mengen, und zwar im Stadium der Differenzierung der Odontoblasten, in Form von Körnchen in Pulpazellen nachweisbar. Zu Beginn der Prädentinbildung und Verkalkung konnten auch Ca-Salze in den subodontoblastischen Zellen der Pulpa dargestellt werden.

An der Grenze zwischen den undifferenzierten Proodontoblasten und dem ektodermalen inneren Schmelzepithel verdichten sich die vor allem saure Mucopolysaccharide enthaltenden Fasern der Pulpa zu einem Filz, der "Membrana präformativa". Sie verhält sich PJS-positiv, gibt eine positive Phosphatase-Reaktion und enthält sudanophile Stoffe.

Die Odontoblasten erfahren vor der Hartsubstanzbildung ein Längenwachstum. Der Zellkern rückt in das unterste Zellviertel; das basale Cytoplasma steht mit den Pulpazellen ohne Basalmembran in Kontakt. In dem oberhalb des

Zellkerns gelegenen Cytoplasma finden sich in diffuser Verteilung sudanophile und PJS-positive Stoffe, jedoch kein Glykogen. Außerdem liegen hier massiert RNS-Strukturen, die auch ohne elektronenmikroskopische Untersuchung als Ergastoplasma gedeutet werden können. Schließlich sind in größerer Menge saure Phosphatase in "diffuser" und granulärer Form nachweisbar, und vereinzelt Lipidtröpfchen, die vorwiegend aus Phospholipiden bestehen. Mit Einsetzen der Verkalkung wird Kalzium innerhalb des Zelleibes und bevorzugt in den Tomes'schen Fortsätzen eingelagert. Das Prädentin besteht aus PJS-positiven Stoffen mit starker Metachromasie, darunter saure Mucopolysaccharide, die vor allem die innere Oberfläche der Dentintubuli auskleiden. Nach der Dentinbildung ist außerdem die Einlagerung von Kalksalzen in dieser Zone histochemisch klar nachweisbar.

Die Ameloblasten unterscheiden sich bei den histochemischen Nachweismethoden nicht auffallend von den Odontoblasten. Man kann im Cytoplasma RNS-haltige Strukturen, PJS-positive Mucopolysaccharide und eine diffuse Sudanophilie sichtbar machen. Eingelagert sind vereinzelt tröpfchenförmige Esterphosphatide. Auffallend ist eine lipoidhaltige Zone an der Basis der Zellen, die auf normal behandelten Fixationspräparaten infolge der herausgelösten Cytoplasmalipoide hell erscheint. Der Ausfall der Reaktion auf alkalische Phosphatase ist gering, während die saure Phosphatase in zahlreichen Granula lokalisiert ist.

In den übrigen Anteilen des Schmelzorgans finden sich in den frühen Stadien der Entwicklung im Cytoplasma folgende Stoffe: in diffuser Verteilung Mucopolysaccharide, Ribonukleinsäuren und saure Phosphatase. Glykogen ist in größerer Menge und in grobtropfiger Verteilung in der Zahnleiste angereichert, in sehr geringen Mengen am Übergang vom äußeren zum inneren Schmelzepithel, also in einer Zone,

die allgemein als Wachstumszone bezeichnet wird. Vereinzelt und nur in einigen jungen Zahnanlagen wird im äußeren Schmelzepithel und in der Schmelzpulpa Glykogen beobachtet. An der Oberfläche der Zellen des Sternretikulums fallen die mit zunehmender Reifung sich mehr und mehr verdickenden Fasern auf. Sie zeichnen sich durch einen hohen Gehalt an sauren Mucopolysacchariden aus. Im Stratum intermedium sind vor allem Glykogen und alkalische Phosphatase nachweisbar.

B. Bei einem Vergleich der eigenen Befunde mit den Ergebnissen anderer Untersucher ergibt sich folgende Gegenüberstellung:

Die eigenen Untersuchungsergebnisse stimmen, was die Verteilung von Kohlenhydraten betrifft, mit denen von HOROWITZ (1942), BEVELANDER und JOHNSON (1949), WISLOCKI und SOGNAES (1950) und SCHLORF (1961) im wesentlichen überein. Im Gegensatz zu WISLOCKI und SOGNAES (1950) finde ich in Odontoblasten und Ameloblasten der Incisivi kein Glykogen. Auch kann ich das Vorkommen von sauren Mucopolysacchariden im äußeren Schmelzepithel (SCHLORF, 1961) nicht bestätigen. Ob diese Unterschiede auf der angewandten Technik beruhen, muß zunächst offen bleiben. BEVELANDER und JOHNSON (1955) beschreiben in den Fortsätzen von Ameloblasten und Odontoblasten saure Mucopolysaccharide. Auch in meinen Präparaten ist im Bereich der Odontoblastenfortsätze eine schwache Blaufärbung zu erkennen, von der aber nicht mit Sicherheit gesagt werden kann, ob sie nicht von einer Überlagerung tiefer gelegener, positiv gefärbter Schichten herrührt.

Hinsichtlich der Verteilung von Lipiden in der Zahnanlage kann ich keine von den übrigen Autoren (WISLOCKI und SOGNAES 1950, IRVING 1958, STEWART 1961, SCHLORF 1961) abweichende Befunde erheben. Mit Hilfe des BAKER'schen

sauren Hämatein-Testes gelingt es, die paraplasmatisch angereicherten Lipide als Esterphosphatide zu identifizieren.

Viele Untersucher (CHASE 1929, ROSEBURY 1930, WISLOCKI und SOGNAES 1950, SOGNAES 1955, NAUJOKS 1956, SCHLORF 1961, PAUTARD 1963) berichten über Keratin, bzw. SH- oder Disulfidgruppen in der Zahnanlage. Ich kann jedoch diese Gruppen nicht mit Sicherheit in der Zahnanlage feststellen.

Bei den Nukleinsäuren komme ich zu denselben Befunden wie JOHNSON und BEVELANDER (1954), SYMONS (1956) und HERMANN (1956). Die von mir beobachtete Verteilung der alkalischen Phosphatase innerhalb der Zahnanlage deckt sich mit den Angaben von SASSO und CASTRO (1957), SCHLORF (1961) und NUKI und BONTING (1961). Weitgehende Übereinstimmung ergibt sich hinsichtlich der Verteilung der sauren Phosphatase mit MORI (1962). Nicht anschließen möchte ich mich dem von BURSTONE (1953) und SCHLORF (1961) erhobenen Befund, auch Prädentin und Dentin (SCHLORF 1961) verfügten über Phosphataseaktivität. Sie tritt nämlich, wie meine Untersuchungen zeigen, auch in erhitzten Kontrollschnitten auf, und muß deshalb als unspezifische Imprägnation gewertet werden. Unstimmigkeiten, die bei der Lokalisation der alkalischen Phosphatase mit den Angaben anderer Untersucher entstehen, haben vermutlich allein ihren Grund in der Methodik. So hängt Lokalisation und Stärke des Ausfalls weitgehend von der Dauer der Inkubation ab. Eine Entkalkung der Präparate, wie sie in verschiedenen Arbeiten angewandt wurde, kann ebenfalls Ursache solcher Unstimmigkeiten sein.

Da Kalzium-Nachweise von den bisherigen Untersuchern meines Wissens nicht angestellt wurden, erübrigt sich eine Gegenüberstellung.

C. Welche Bedeutung können wir den in der
Zahnanlage nachgewiesenen Stoffen
zumessen?

Nicht nur in der Zahnleiste, sondern in fast allen Geweben des Feten findet sich mehr oder weniger massiert Glykogen. Anscheinend stellt diese Speicherform von Glukose ein Energiedepot dar. Werden bei Einsetzen von Differenzierungsvorgängen in einem Blastem Kohlehydrate benötigt, muß eine Depolymerisation von Glykogen vorausgehen. Damit entzieht es sich unseren histochemischen Nachweismethoden. Dies scheint eine einleuchtende Erklärung zu sein, weshalb in den bereits differenzierten Zahnanlagen fast kein Glykogen gefunden wird, während es in frühen Stadien der Zahnleiste und in dem noch wenig differenzierten Blastem des Periodontiums in großen Mengen vorhanden ist. Auch findet man es zum gleichen Zeitpunkt in der noch nicht differenzierten Wachstumszone am unteren Rand der Zahnglocke. HOROWITZ (1942) vermutet einen Zusammenhang zwischen Glykogen, Phosphatase und Verkalkung. Er hält es für wahrscheinlich, daß Glykogen im verkalkenden Zahn zu rasch abgebaut wird, als daß es histochemisch erfaßt werden könnte.

Über die Frage, welche Bedeutung saure und neutrale Muco-polysaccharide im Gewebe und speziell im Zahngewebe oder in den Fasern des Sternretikulums zukommt, kann heute noch nicht beantwortet werden. Sicher ist, daß PJS-positive Stoffe an der Oberfläche von Zellen zu finden sind und hier in einem noch zu klärenden Zusammenhang mit der Stoffaufnahme stehen und damit auch für den zwischenzelligen Stofftransport von Bedeutung sind.

Die durch Sudanschwarz B erzeugte diffuse Graufärbung des Grundplasmas aller am Aufbau der Zahnanlage beteiligten Zellen ist mit hinreichender Sicherheit an die Cytoplasmalipoide gebunden. Als paraplasmatisch angereicherte Lipide

müssen die kleinen tröpfchenförmig eingelagerten Einschlüsse bezeichnet werden. Sie bestehen bevorzugt aus Esterphosphatiden, wie der Test mit saurem Hämatein (BAKER) gezeigt hat. Diese Einlagerungen sind keine Besonderheiten, sondern finden sich ubiquitär im fetalen Gewebe. Ihre Bedeutung ist unbekannt. Worauf die unspezifische Anfärbung von Dentin mit Sudanschwarz B beruht, kann gleichfalls nicht beantwortet werden. Ein Vergleich der Färbung des Gewebes durch Luxol-fast-blue mit dem sauren Hämatein-Test unterstreicht die Ansicht, daß Luxol-fast-blue keine hohe Spezifität besitze.

Wenig ergiebig war die Ausbeute bei den Nachweismethoden auf Proteine. Außer dem Nachweis für α -Aminosäuren war das Ergebnis der anderen Nachweismethoden so gering, daß nur mit Vorsicht auf Spuren von Tyrosin, Histidin und Disulfidgruppen geschlossen werden kann.

Die bisherigen Untersuchungen auch anderer Autoren zeigen übereinstimmend, daß mit Einsetzen von Differenzierungsvorgängen an Praeameloblasten und Präodontoblasten der Gehalt an RNS merklich zunimmt; während ein solcher Anstieg in Zellen, die keine produktive Leistung übernehmen, nicht zu verzeichnen ist. Wenn auch für den speziellen Fall der Zahnanlage noch keine elektronenmikroskopischen Untersuchungen vorliegen, ist doch mit hinreichender Sicherheit die RNS strukturgebunden, und es können diese Strukturen auch lichtmikroskopisch als Ergastoplasma bezeichnet werden. Wir wissen heute, daß die Produktion von Mucopolysacchariden und ganz besonders von Proteinen an das Ergastoplasma gebunden ist, und vermutlich noch andere Stoffe in dessen Bereich entstehen. Dies erklärt, weshalb zu Beginn und während der Hartsubstanzbildung die betreffenden Zellen mit einem sehr ausgeprägten Ergastoplasma ausgestattet werden. Dieses steht also, wie bereits JOHNSON und BEVELANDER (1954) und HERMANN (1956) annahmen,

mit der Produktion der Hartsubstanz in Zusammenhang.

Über die Aufgaben der Phosphatasen gehen die Meinungen und Theorien der verschiedenen Untersucher (GOMORI 1943, BEVELANDER und JOHNSON 1949, SYMONS 1955, NAUJOKS 1956, NUKI und BONTING 1961, MORI 1962) weitauseinander. So findet GOMORI (1943) zum Beispiel, daß die saure Phosphatase bei der Verkalkung keine Rolle spielt. MORI (1962) hingegen nimmt an, daß sie in direkter Beziehung zur Mineralisation steht, während er mit SYMONS (1955) die Ansicht teilt, die alkalische Phosphatase habe mit Zelldifferenzierung, Matrixbildung und gewissen anderen metabolischen Funktionen zu tun. BEVELANDER und JOHNSON (1949) meinen hingegen, die alkalische Phosphatase müßte nach Vollendung der Schmelzmatrix aus den Ameloblasten und anderen epithelialen Geweben verschwinden, wenn sie nur an der Bildung organischer Bestandteile des Schmelzes beteiligt wäre. In meiner Arbeit wurden über diese Fragestellungen keine Versuche angestellt. Eine Diskussion der oben genannten Ansichten erübrigt sich deshalb.

Die Kalziumniederschläge fanden sich bevorzugt extrazellulär zwischen Ameloblasten, Odontoblasten und ganz besonders an der Oberfläche der Tomes'schen Fasern. Es erhebt sich hier sofort die Frage, ist diese Lokalisation die Folge einer durch die Fixation hervorgerufenen Verlagerung, oder erfolgt der Transport von Kalzium-Ionen tatsächlich extrazellulär.

Eine besondere Funktion im Schmelzorgan, das stets frei von Gefäßen gefunden wird, kommt dem Stratum intermedium zu. Die dicht aneinanderliegenden, polyedrischen Zellen unterscheiden sich bereits morphologisch weitgehend von den Zellen des Sternretikulums. In Übereinstimmung mit HOROWITZ (1942), MORSE und GRÆEP (1947), BRUCKNER (1949), WISLOCKI und SOGNAES (1950), SYMONS (1955, 1956), SaSSO

und CASTRO (1957), NUKI und BONTING (1961) und SCHLORF (1961) fand sich auch bei meinen Untersuchungen in dieser Schicht eine hohe alkalische Phosphatase-Aktivität, außerdem Kalzium, PJS-positive Substanzen und in Übereinstimmung mit BEVELANDER und JOHNSON (1942) und WISLOCKI und SOGNAES (1950) Glykogen. Anscheinend obliegt den Zellen des Stratum intermediums eine trophische Funktion für die Ameloblasten.

F. ZUSAMMENFASSUNG

1. Gegenstand der Untersuchungen waren die Zahnanlagen fetaler, neugeborener und 7-8 Tage alter Mäuse.
2. Mit histochemischen und fermentchemischen Methoden wurde die intra- und extrazelluläre Verteilung von Kohlehydraten, Lipiden, Proteinen, Nukleinsäuren, Phosphatasen und Kalzium nachgewiesen, und ihr topographisches Vorkommen in der Zahnanlage in den verschiedenen Entwicklungsstadien verfolgt. Hierbei konnten die Befunde anderer Untersucher zum Teil bestätigt, zum Teil erweitert werden. Als neue Ergebnisse sind zu werten: der Nachweis von Phospholipiden in Odontoblasten und Ameloblasten, die Proteinnachweise, die über die chemische Zusammensetzung der Dentinmatrix einen Beitrag liefern, die Lokalisation von Kalzium in den Zellen der Zahnanlage, und der Nachweis saurer Mucopolysaccharide in den Fasern des Sternretikulums.
3. Die eigenen Befunde werden nach Gegenüberstellung mit Befunden anderer Untersucher diskutiert.

G. LITERATURVERZEICHNIS

- BACHMANN, R., H.M. SEITZ: Zur histochemischen Darstellung des Histidins mit Diazoniumsalzen. *Histochem.* 2, 307-312 (1961)
- BARGMANN, W.: Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen, 3.Aufl. Stuttgart: Thieme 1959
- BEVELANDER, G., P.L. JOHNSON: The histochemical localization of glycogen in the developing tooth. *J. Cell. and Comp. Physiol.* 28, 129-137 (1946)
Alkaline phosphatase in amelogenesis. *Anat.Rec.* 104, 125-135 (1949)
The localization of polysaccharides in developing teeth. *J. Dent. Res.* 34, 122 (1955)
- BRUCKNER, R.J.: Alkaline phosphatase in pulpal tissue of human teeth. *J. Dent. Res.* 28, 55-60 (1949)
- BURSTONE, M.S.: Acid phosphatase activity of calcifying bone and dentine matrices. *J. Histochem. Cytochem.* 7, 147-149 (1959)
- CHASE, S.W.: Additional evidence of the keratinous nature of the enamel matrix. *J. Dent. Res.* 9, 288 (1929)

- CEDERBERG, I.: Acta anat., Basel 12, 334 (1952)
- DUIJN, P. van: Acrolein-Schiff, a new staining method for proteins. Histochem. and Cytochem. 9, 234-241 (1961)
- ENGEL, M.B., FURUTA, W.: Histochemical studies of phosphatase distribution in developing teeth of the albino rat. Proc.Soc.Exp.Med.and Biol. 50, 5-9 (1942)
- GEE-RUSSEL, S.M. Mc: Histochemical Methods for Calcium. J. Histochem. Cytochem. 6, 22 (1958)
- HAGEMANN, R.: Ratte und Maus, Berlin: Walter de Gruyter und Co.(1961)
- HARRIS, E.S.: The sites of alkaline phosphatase in dentinogenesis. Anat.Rec. 107, 105 (1950)
- HERMANN, R.: Das Verhalten der Nukleinsäure im Laufe der Zahnentwicklung. Z.Zellforschg. 45, 176-194 (1956)
- HOROWITZ, N.H.: Histochemical study of phosphatase and glycogen in foetal heads. J. Dent.Res. 21, 519-527 (1942)
- IRVING, J.T.: Sudanophil inclusions in ameloblasts, odontoblasts and cells of the oral epithelium. Nature (London) 181, 569 (1958)

- JOHNSON, P.L., G. BEVELANDER: The localization and inter-relation of nucleic acids and alkaline phosphatase in the developing tooth.
J.Dent.Res. 33, 128-135 (1954)
- LIPP, W.: Histochemische Methoden
- MARSLAND, E.A.: A histological investigation of amelogenesis in rats.
1. Matrix formation. Brit.dent. J. 91, 251-261 (1951)
2. Maturation. Brit.dent. J. 92, 109-119 (1951)
- MORI, A., K. FORADA, J. OKAMOTO: Histochemical studies on the localization and activity of acid phosphatase in calcifying tissues.
Histochem. 2, 427-434 (1962)
- MORSE, A., R. GREEP: Alkaline glycerophosphatase in the developing teeth of the rat.
Anat. Rec. 99, 379-395 (1947)
- NAUJOKS, R.: Histotopochemische Untersuchung am Zahnorgan
Dt. Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde 24, 265-312 (1956)
- NUKI, K., S.L. BONTING: Quantitative Histochemie des sich entwickelnden Hamsterzahnes:
Alk. Ph. u. Milchsäuredehydrogenase
Histochem. Cytochem. 9, 117-125 (1961)

- PAUTARD, F.G.E.: Mineralisation von Keratin und ihr Vergleich mit der Schmelzmatrix.
Nature (London) 199, 531-535 (1963)
- PEARSE: Histochemistry, Theoretical and Applied.
J&A Churchill, Ltd., London (1960)
- PIOCH, W.: Über die Darstellung saurer Mucopolysaccharide mit dem Kupferphthalocyaninfarbstoff Astrablau.
Virch. Arch. 330, 337 (1957)
- ROMEIS, B.: Mikroskop. Technik, Leibniz: Verlag München (1948)
- ROSEBURY, T.: A biochemical study of the protein in dental enamel.
J. Dent. Res. 10, 187-213 (1930)
- SASSO, W.S., N.M. CASTRO: Histochemical study of amelogenesis and dentinogenesis.
Oral Surg. Med. a. Path. 10, 1323-1329 (1957)
- SCHIEBLER, T.H., S.SCHIESSLER: Über den Nachweis von Insulin mit den metachromatisch reagierenden Pseudoisocyaninen.
Histochem. 1, 445-465 (1959)
- SCHLORF, D.: Beitrag zur Histochemie der Zahnentwicklung. Diss., Hamburg 1961.

- SOGNNAES, R.F.: Microstructure and histochemical characteristics of the mineralized tissues. Ann, New York Acad. Sci. 60, 545 (1955)
- STEWART, J.M.: Odontoblasts: Vacuoles and inclusions. Science 133, 1011-1012 (1961)
- SYMONS, N.B.B.: Alkaline phosphatase activity in the developing teeth of the rat. J. Anat. 89, 238-245 (1955)
Ribonucleic acid-alkaline Phosphatase diestribution in the developing teeth of the rat. J. Anat. 90, 117-122 (1956)
- WEIZENBERG, J.: Ein Versuch, die Anlage der Zahnkeime in der noch einheitlichen Zahnleiste mit Hilfe der sauren Phosphatase aufzufinden. Acta histochem. 1, 126-129 (1954)
- WISLOCKI, G.B., M. SINGER:
C.M. WALDO: Some histochemical reactions of mucopolysaccharides, glycogen, lipids and other substances in teeth.
Anat. Rec. 101, 487-514 (1948)
- WISLOCKI, G.B., R.F. SOGNNÆS: Histochemical reactions of normal teeth.
Americ. J. Anat. 87, 239-266 (1950)

DANKSAGUNG

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. R. Bachmann, Direktor des Institutes für Histologie und experimentelle Biologie der Universität München, für die Überlassung des Themas und eines Arbeitsplatzes am Institut zu danken. Herrn Privatdozent Dr. W. Schmidt möchte ich für die freundliche Unterstützung und die Beratung bei der Abfassung der Arbeit danken.

LEBENS LAUF

Am 20. Februar 1941 wurde ich als Tochter des Ingenieurs Hermann Karl Detzel und seiner Ehefrau Erika Detzel, geb. Sinn, in Plauen/i.V. geboren. Von 1947-1950 besuchte ich die Volksschule in Wasseraufingen. Die mittlere Reifeprüfung legte ich 1956 am Mädchen-Progymnasium, das Abitur 1959 am Schubart-Gymnasium in Aalen/Wttbg. ab. Im Mai 1959 begann ich das Studium der Zahnheilkunde an der Universität München, wo ich im Sommer 1964 mein Studium mit dem zahnärztlichen Staatsexamen abschloß. Am 1. August 1964 wurde ich mit den Aufgaben eines Verwalters einer wissenschaftlichen Assistentenstelle in der prothetischen Abteilung der Universitätszahnklinik München betraut.

Einleitung

Die vorliegende Arbeit ist eine Fortsetzung der Untersuchung
über die Entwicklung der deutschen Literatur im 19. Jahrhundert.
Im ersten Teil wird die Entwicklung der deutschen Literatur
im 19. Jahrhundert im allgemeinen dargestellt. Im zweiten Teil
wird die Entwicklung der deutschen Literatur im 19. Jahrhundert
im besonderen dargestellt. Im dritten Teil wird die Entwicklung
der deutschen Literatur im 19. Jahrhundert im besonderen
dargestellt. Im vierten Teil wird die Entwicklung der deutschen
Literatur im 19. Jahrhundert im besonderen dargestellt.

